

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Tasas de pérdida de agua por evapotranspiración en dos especies
de anfibios ecuatorianos con hábitos ecológicos diferentes: *Hypsiboas cinerascens* (Anura:
Hylidae) y *Pristimantis unistrigatus* (Anura: Craugastoridae)

Disertación previa a la obtención del título de
Licenciada en Ciencias Biológicas

GABRIELA ALEXANDRA MALDONADO CASTRO

Quito, 2017

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Srta. Gabriela Alexandra Maldonado Castro ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Andrés Merino-Viteri
Director de la Disertación
Quito, febrero de 2017

*A la curiosidad, la alegría,
Al amor y a la vida.*

AGRADECIMIENTOS

A Andrés Merino mi gratitud, quien con su paciencia y guía hizo posible esta investigación, por sus comentarios acertados y correcciones, sin la oportunidad que me brindó no habría qué celebrar hoy. Gracias a la Iniciativa de Conservación "Balsa de los Sapos", PUCE por el financiamiento para este proyecto.

A Santiago Ron por permitirme usar los equipos del Museo de Zoología QCAZ y por hacerme sentir siempre parte del equipo de trabajo, gracias infinitas.

A mis lectores Andrés Romero y Priscila Muriel por sus oportunos comentarios y correcciones gracias por enriquecer este trabajo. A Pol Pintanel, Freddy Almeida y Alex Achig por su ayuda en la colecta de los sapitos, muchas gracias.

Un gran amigo mencionó que un triunfo no le pertenece sino a las personas quienes lo hicieron posible: gracias a todas las mujeres que han estado en todo este proceso, compartiendo risas, llantos, pero, sobre todo, la emoción de vivir; María José Navarrete, Estefany Guerra, Belén Proaño, Nadia Páez, Anna Jácome gracias infinitas por enseñarme, disciplina, amor, valentía, ternura y hermandad.

A mi familia Rosita, Mami, Diego Paúl, Karina, por todo su apoyo; a mi hermana del alma Karlita gracias por estar, por tu escucha y por regalarme la sonrisa de mi pulguita Zarita. A Verónica Rodríguez quien ha sido mi soporte por más de 25 años, gracias por obligarme a creer en mí.

No existen palabras que expresen cuan agradecida estoy a quien me regaló un hogar, me enseñó la importancia del trabajo, me mostró que una mujer no necesita más que sus dos manos para levantarse y comerse el mundo, a mi abuela Nina y por el fuego que me enseñaste a mantener en la vida. PAY.

LISTA DE ABREVIATURAS

PAE:	Pérdida de Agua por Evapotranspiración
TPE:	Tasa de Pérdida de agua por Evapotranspiración
PCA:	Postura de Conservación de Agua
PUCE	Pontificia Universidad Católica del Ecuador
Pf:	Peso final
Po:	Peso inicial
Tf:	Tiempo final
To:	Tiempo inicial
R_{TOTAL} :	Resistencia Total
R_{CLIM} :	Resistencia de Capa Límite
R_{CUT} :	Resistencia Cutánea
A_{EXP} :	Área Expuesta
A_{SUB} :	Área en contacto con el Substrato

LISTA DE CONTENIDO

1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1.OBJETIVOS	7
3.1.1. GENERAL.....	7
3.1.2. ESPECÍFICOS.....	7
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
4.1. LUGARES DE COLECCIÓN.....	8
4.2. MANTENIMIENTO EN LABORATORIO.....	8
4.3. EXPERIMENTOS DE DESECACIÓN	8
4.4. EXPERIMENTOS DE PÉRDIDA DE AGUA.....	9
4.5. MODELOS DE AGAR.....	10
4.6. TASAS DE DESECACIÓN	11
4.7. RESISTENCIAS CUTÁNEAS	12
4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	12
5. RESULTADOS	73
5.1. EXPERIMENTOS DE PÉRDIDA DE AGUA.....	13
5.2. TASAS DE DESECACIÓN.....	13
5.3. PORCENTAJE DE PÉRDIDA DE PESO Y TIEMPO LÍMITE DE EXPOSICIÓN.....	14
5.4. RESISTENCIAS CUTÁNEAS.....	15
6. DISCUSIÓN.....	76
6.1. TASAS DE DESECACIÓN.....	16
6.2. LÍMITES DE DESECACIÓN Y PORCENTAJES DE PÉRDIDA DE AGUA.....	17
6.3. RESISTENCIAS CUTÁNEAS	18

7. CONCLUSIONES	22
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
9. FIGURAS.....	29
10. TABLAS.....	34
11. ANEXOS.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistema de desecación.....	29
Figura 2. Modelos de agar	30
Figura 3. Gráfico de la humedad relativa registrada a través del tiempo en <i>P. unistrigatus</i> e <i>H. cinerascens</i>	31
Figura 4. Tasas de pérdida de agua para <i>P. unistrigatus</i> e <i>H. cinerascens</i>	32
Figura 5. Resistencia cutánea a la pérdida de agua por evapotranspiración.....	33

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Datos gravimétricos de <i>Pristimantis unistrigatus</i> tomados en experimentos de desecación	34
Tabla 2. Datos gravimétricos de <i>Hypsiboas cinerascens</i> tomados en experimentos de desecación.....	35
Tabla 3. Valores para prueba de Wilcoxon para peso inicial entre ranas vivas y sus modelos de agar.	36
Tabla 4. Tasas de pérdida de agua valores en bruto, Tasa de Pérdida de Agua por evapotranspiración con respecto a la superficie expuesta en postura de conservación de agua	36
Tabla 5. Valores para la prueba de Wilcoxon para Tasas de Pérdida de Agua por Evapotranspiración entre las ranas vivas.	37
Tabla 6. Porcentajes de pérdida de agua y tiempo límite letal bajo condiciones de laboratorio	38
Tabla 7. Resistencias totales y cutáneas a la pérdida de agua por evapotranspiración.	39

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Medidas de las ranas y modelos de agar de las especies <i>P. unistrigatus</i> e <i>H. cinerascens</i>	40
Anexo 2. Valores de Prueba de Wilcoxon para los datos de medidas corporales	41

1. RESUMEN

La Pérdida de Agua por Evapotranspiración (PAE) en la piel de anfibios ha sido considerada como factor importante en su adaptación para conquistar ambientes terrestres. Para disminuir esta pérdida, este grupo ha desarrollado tanto estrategias ecológicas (ser nocturno, enterrarse, Postura de Conservación de Agua (PCA), selección de microhábitats húmedos) como mecanismos fisiológicos (impermeabilización de la piel por producción de cera o presencia de resistencia cutánea).

Se estudió la Tasa de Pérdida de agua por Evapotranspiración (TPE) para *Pristimantis unistrigatus*, una rana terrestre, nocturna con desarrollo directo e *Hypsiboas cinerascens*, una rana arbórea, nocturna con larva acuática. Se comparó la TPE de las ranas vivas con la de modelos de agar de igual tamaño, forma y color de sus respectivas especies. Mediante el uso de un flujo constante de aire seco (102 ml min^{-1}) a temperatura ambiente (aprox. 20°C). La tasa de PAE calculada para *P. unistrigatus* fue de $0,064 \text{ g h}^{-1}$ y de $0,080 \text{ g h}^{-1}$ para *H. cinerascens*, mientras que para los modelos de agar los valores obtenidos fueron $0,117$ y $0,150 \text{ g h}^{-1}$ respectivamente. Los resultados para los modelos de agar de *H. cinerascens* se debe tomar con cuidado debido a que una de las medidas usadas (profundidad del cuerpo) presentó diferencias significativas con las ranas vivas.

Nuestros resultados muestran que las dos especies presentan resistencia cutánea para evitar la PAE. *P. unistrigatus* utilizaría este mecanismo para enfrentar la estacionalidad existente en los valles interandinos donde habita, algo inesperado pues se ha reportado que su comportamiento lo expone a lugares con alta humedad relativa. La ecología propia de *H. cinerascens* la exponen constantemente al contacto con el aire razón por lo que sería necesaria la presencia de esta resistencia cutánea para disminuir la PAE. Estos primeros resultados sirven de línea base para iniciar la predicción de efectos de la humedad debido al cambio climático en estos organismos y focalizar estrategias de conservación en el futuro.

Palabras clave: Anfibios, Evapotranspiración, Hábitos ecológicos, Resistencia cutánea.

2. ABSTRACT

Evaporative Water Loss (PAE for its Spanish translation) in the skin of amphibians has been considered an important factor in their adaptation to conquer terrestrial environments. To reduce this loss, this group has developed ecological strategies (nocturnal, bury, Water Conservation Posture (PCA in spanish), selection of wet microhabitats) and physiological mechanisms (waterproofing of the skin by wax production or presence of skin resistance) .

Water loss rates (TPE for its Spanish translation) were calculated for *Pristimantis unistrigatus* a nocturnal terrestrial frog, with direct development and for *Hypsiboas cinerascens*, a nocturnal arboreal frog with aquatic larvae. The TPE of alive frogs were compared with agar models with similar size, shape and color. A constant dry air flow (102 ml min⁻¹) at room temperature (approximated 20 °C) was used in the experiments. The TPE calculated for *P. unistrigatus* was 0,064 g h⁻¹ and 0,080 g h⁻¹ for *H. cinerascens* whereas the agar models were: 0,117 and 0,150 g h⁻¹ respectively. The results for the *H. cinerascens* agar models should be taken with caution because one of the measures used (body depth) presented significant differences with alive frogs.

Our results show that both species have cutaneous resistance to avoid PAE. *P. unistrigatus* would use this mechanism to face the seasonality in the inter-Andean valleys where it inhabits, something unexpected because it has been reported that its behavior exposes it to humid places. The own ecology of *H. cinerascens* exposes it constantly to air conditions, reason why it would be necessary the presence of this cutaneous resistance to diminish the loss of evaporative water loss. Those initial results are an important baseline to initiate the prediction of moisture effects due to climate change in these organisms and to focus conservation strategies in the future

Keywords: Amphibians, Climate change, Evapotranspiration, Ecological habit, Water loss.

3. INTRODUCCIÓN

El Ecuador ocupa el tercer lugar en biodiversidad a nivel mundial en cuanto fauna de anfibios, con un total de 580 especies descritas hasta diciembre del 2016 (Ron et al., 2016). Una alta diversidad también representa una gran cantidad de especies potencialmente amenazadas. Las poblaciones de anfibios a nivel mundial están sufriendo un declive considerable las tasas de extinción en vertebrados, especialmente de anfibios, continúan incrementándose por diversos factores tales como contaminación, enfermedades, destrucción y pérdida de hábitat, incremento de la frontera agrícola, introducción de especies invasivas (Ron et al., 2003; Wells, 2007; Hoffman et al. 2010; Pacifici et al., 2015).

Se predice cambios en la distribución geográfica de las especies como respuesta al cambio climático. Desplazándose hacia mayores latitudes o altitudes en busca de condiciones ambientales como temperatura y humedad similares a las que habitan en el presente (Collevatti et al., 2013; Eskildsen et al., 2013). Ochoa y colaboradores (2012) también predicen que especies con baja capacidad migratoria, como los anfibios, poseen altas tasas de extinción.

Este grupo es el más amenazado por el cambio climático dentro de los vertebrados, sus etapas acuáticas, terrestres como sus ciclos reproductivos generalmente están ligados a la presencia de humedad. Sus huevos sin cascarón dependen de la humedad y su piel altamente permeable hace que estos organismos sean muy sensibles a cambios hídricos y térmicos del ambiente (Haddad y Prado, 2005; Ochoa et al., 2012).

La piel representa el límite entre las condiciones externas y la protección del organismo, así como la interacción con el medio ambiente. La piel de los anfibios es única dentro de los vertebrados. Su permeabilidad es mayor por sus propiedades estructurales (Kaufmann y Dohmen, 2016), la presencia de glándulas mucosas, glándulas serosas y la vascularización variable de la dermis. La capa más externa de la epidermis (stratum corneum) está compuesta de células queratinizadas vivas a diferencia del resto de vertebrados (Hillman, Withers, Drewes, y Hillyard, 2009).

La respiración cutánea es una de las funciones primordiales de la piel en los anfibios. También garantiza protección en contra de infecciones (presencia de péptidos antimicrobianos), además la piel en los anfibios presenta zonas específicas con mayor vascularización (parche pélvico) que ayudan a la absorción de agua, compensando la pérdida de ésta por evapotranspiración en la piel (Duellman y Trueb, 1994; Uchiyama y Konno, 2006).

La colonización de ambientes terrestres por parte de los anfibios supone una gran transición, en cuanto a adaptaciones fisiológicas como adaptaciones en la ecología de las especies (Bentley, 2002). Uno de los principales problemas a resolver en esta colonización fue evitar la pérdida de agua por evapotranspiración, es decir conservar la humedad del organismo (Spotila y Berman, 1976; Toledo y Jared, 1993). Por esta razón se han realizado estudios sobre este proceso, al igual que sobre los factores que la influyen (Tracy, 1976; Spotila y Berman, 1976).

Se puede encontrar ranas en una amplia diversidad de ecosistemas terrestres, incluyendo desiertos (Hillman et al., 2009). Para enfrentar algunos de estos ambientes, las ranas han desarrollado estrategias para disminuir la pérdida de agua, tanto fisiológicas (fusión de lípidos para impermeabilizar la piel, secreción de mucosa o cera) como comportamentales (enterrarse, selección de micro hábitats húmedos, tiempo limitado de exposición, adopción de posturas de conservación de agua) (Pough, Taigen, Stewart, y Brussard, 1983; Shoemaker et al., 1992).

La resistencia cutánea en anfibios o la capacidad fisiológica de evitar la desecación (Hillman et al., 2009) se presenta después de eliminar los efectos de la capa límite entre el organismo y el ambiente (Young, Tracy, Christian y McArthur, 2006). Esta característica permite cuantificar la importancia de la piel en la velocidad de pérdida de agua por evapotranspiración. Con esta información se puede inferir mecanismos particulares fisiológicos para esta resistencia. En general se conoce que los reptiles mantienen una alta resistencia y tasas de pérdida de agua bajas mientras que en anfibios la resistencia cutánea es baja y pueden evaporar agua a la misma tasa que el agua libre (Spotila y Berman, 1976; Hillman et al., 2009; Wygoda, Dabruzzi, y Bennett, 2011).

Uno de los principales métodos que permiten determinar si las ranas poseen mecanismos de resistencia cutánea por evapotranspiración es el uso de modelos que imiten características físicas y termales de organismos vivos (Rowley y Alford, 2009). Para este propósito, se utilizan distintos materiales que emulen estas características: tubos de cobre (Bradford, 1984), yeso (Tracy, Betts, y Christian, 2007), uso de ranas muertas (Seebacher y Alford, 2002), esponjas (Hasegawa et al., 2005) o modelos de agar (Navas y Araujo, 2000). Todos ellos presentan resistencia cutánea igual a cero (evaporan agua como una superficie de agua libre), por lo que son ideales para realizar comparaciones con organismos vivos (Rowley y Alford, 2009).

Existe una relación entre los hábitos ecológicos en anfibios y su resistencia cutánea a la pérdida de agua y tolerancia a la deshidratación. Se ha determinado que esta resistencia es mayor en especies arbóreas, menor en especies acuáticas e intermedia en especies terrestres (Young, Christian, Donnellan, Tracy y Parry, 2005). También se ha reportado una correspondencia entre hábitos ecológicos y comportamientos de termorregulación en ranas de la familia Hylidae en Australia (Young et al., 2005; Tracy, Tixier, Nöene, y Christian, 2014).

En el Ecuador, los estudios sobre tasas de evapotranspiración en anfibios son escasas. La única investigación realizada hasta el momento es la de Romero (2013), quien reportó que especies con distintos hábitos ecológicos presentan diferentes capacidades de enfrentar cambios ambientales en su hábitat (Parque Nacional Yasuní). La tasa de desecación máxima para *Scinax ruber* (Laurenti, 1768) (especie arbórea) fue de 1.02% de su peso total, los individuos de esta especie pueden permanecer activos durante 10 horas sin alcanzar su límite letal por desecación. En contraste, Páez-Vacas et al., (2010) *Hyloxalus yasuni* (especie terrestre) no se encuentra amenazada por la pérdida de agua porque su actividad diurna la hace muy cerca de riachuelos y no presenta altas tasas de deshidratación.

Con estos antecedentes, la presente investigación busca reportar tasas de pérdida de agua por evapotranspiración bajo condiciones estandarizadas de laboratorio, en dos especies de anuros ecuatorianos con distintos hábitos ecológicos: *Pristimantis unistrigatus* (Günther, 1859) e *Hypsiboas cinerascens* (Spix, 1824). El estudio de las tasas de pérdida de agua por evapotranspiración en estas dos especies con distintos hábitos ecológicos

(terrestre, arbórea), distintos tipos de reproducción (desarrollo directo, con larva acuática), serán la base para poder evaluar efectos de cambios antropogénicos (disponibilidad de agua), cambios climáticos o modificaciones en el hábitat, convirtiéndose en modelo para futuras investigaciones que serán usadas para tratar de mitigar la pérdida de biodiversidad en el Ecuador.

El cutín de Quito (*Pristimantis unistrigatus*) se encuentra distribuido desde el sur de Colombia hasta la región andina central del Ecuador. La especie ha sido registrada en las provincias de Cotopaxi, Imbabura y Pichincha, en un rango altitudinal de 2 200 a 3 400 msnm. El cutín habita en pastizales, áreas urbanas de los valles interandinos, zanjales, arbustos, cultivos, incluso en bosques con presencia abundante de *Eucalyptus* sp. Su actividad es principalmente nocturna, pero se los puede escuchar en el día y bajo la lluvia, presentan desarrollo directo (sin etapa larvaria acuática) por lo que son de hábitat terrestre (Ron et al., 2012).

La distribución geográfica de *Hypsiboas cinerascens* comprende las Guyanas, la cuenca amazónica en Brasil, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia, en un rango altitudinal desde los 200 hasta los 1000 msnm (Azevedo-Ramos et al., 2012). En Ecuador se tienen registros de presencia en las provincias de Sucumbíos, Napo, Orellana, Tungurahua, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe (Ron y Read, 2012). Es una especie nocturna y arbórea. Grupos pequeños de machos agregados hacen sus llamados a las hembras, quienes se encuentran inmóviles sobre hojas. La reproducción de *H. cinerascens* se ha visto favorecida en épocas lluviosas. Las puestas son depositadas sobre hojas cerca de una charca, pues presentan larva acuática en su desarrollo (Telles, Vaz y Menin, 2013).

3.1. OBJETIVOS

3.1.1. GENERAL

- Determinar la tasa de pérdida de agua por evapotranspiración en individuos adultos de dos especies de anfibios: *Hypsiboas cinerascens* y *Pristimantis unistrigatus*, que presentan características ecológicas distintas, bajo condiciones estandarizadas de laboratorio.

3.1.2. ESPECÍFICOS

- Evaluar y cuantificar si existen diferencias en las tasas de PAE entre las dos especies de estudio.
- Determinar las tasas de desecación control para cada especie, en base de experimentos con modelos de agar con forma y tamaño similar a cada una de ellas.
- Calcular la resistencia cutánea a la pérdida de agua por evaporación en *Hypsiboas cinerascens* y *Pristimantis unistrigatus*, mediante la comparación de sus tasas de desecación y las de sus modelos de agar correspondientes.
- Determinar si la resistencia cutánea está asociada a comportamientos o mecanismos fisiológicos ligados a la ecología de cada una de las dos especies.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. LUGARES DE COLECCIÓN

Individuos de la especie *Pristimantis unistrigatus* (N = 15) fueron colectados en el Parque Metropolitano Guangiltagua de Quito en la provincia de Pichincha con coordenadas geográficas (0,17630 S; 78,46098 O; altura: 2 896 msnm) entre las 20:30 y 22:30 horas, en diciembre de 2015. Los individuos de *Hypsiboas cinerascens* (N = 15) fueron colectados en el Centro de Rescate Animal Zanja Arajuno sus coordenadas geográficas (1,35477 S; 77,86462 O; altura: 949 msnm) ubicado en la provincia de Pastaza (km 31 vía Puyo - Tena), entre las 21:00 y 23:00 horas en abril de 2016.

4.2. MANTENIMIENTO EN LABORATORIO

Las ranas colectadas se colocaron en terrarios plásticos con hojarasca y constante suministro de agua. Su aclimatación fue por al menos de una semana y se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura (aprox. 20 °C) y alimentación (tres veces por semana con grillos número 3 (Wright y Whitaker, 2001) proporcionados por el bioterio de la Iniciativa de Conservación “Balsa de los Sapos”) de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE). Finalmente, los experimentos se realizaron en las instalaciones del laboratorio de Ecofisiología de la Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE.

4.3. EXPERIMENTOS DE DESECACIÓN

Se utilizó un sistema abierto de flujo de aire para medir la pérdida de agua por evapotranspiración (Christian y Parry, 1997). El sistema está formado por 3 cámaras de vidrio (radio interno = 2,95 cm) interconectadas. Se colocaron registradores automáticos de temperatura y humedad relativa (Hygrochron® iButton DS1923, resolución 0,5°C), ubicados antes (control) y después de la cámara de experimentación para la rana.

Para estimar la pérdida de agua por evapotranspiración, se colocaron los individuos de ambas especies en la segunda cámara de cristal, y fueron sometidos a un flujo de aire

seco (0% HR) a temperatura ambiente (aprox. 20°C). El aire seco se consiguió mediante el uso de una columna de Drierite® (Sigma Aldrich 11426JC) que remueve la humedad del aire. Se ajustó el flujo de aire mediante un lector de flujo OMEGA (FLR1002-D), a 102 ml min⁻¹, para que dentro de la cámara donde se colocó la rana la velocidad del aire sea de 0,25 cm s⁻¹ (Shoemaker y McClanahan, 1975) (Fig. 1).

4.4. EXPERIMENTOS DE PÉRDIDA DE AGUA

Cada experimento constó de tres fases con una duración total de 80 minutos. La primera fase de 10 minutos se usó para crear la línea base inicial (dejar que el aire seco fluya a través del sistema sin la rana en la cámara central), la segunda fase duró 60 minutos con la rana en la cámara central; este es el tiempo sugerido para promover que la rana adquiriera postura de conservación de agua (Pough et al., 1983). Finalmente, la tercera fase duró 10 minutos sin la rana en la cámara central, para crear la línea base final.

Antes de que cada individuo ingrese a la cámara central, se lo hidrató con 5ml de agua por 10 minutos en una tarrina plástica, luego se retiró el exceso de agua del cuerpo con una toalla de papel presionando suavemente el cuerpo de la rana, de esta manera también nos aseguramos que la vejiga de la rana se vacíe para evitar lecturas de humedad correspondientes a la orina de las ranas (Young et al., 2005; Tracy et al., 2014).

Después de la hidratación se tomó el peso inicial (P_o) de cada individuo en una balanza Boeca Germany BBI-41 con una precisión de 0,001g. Al completar cada experimento, se tomaron los siguientes datos para cada individuo: temperatura de la superficie de la piel (termopar asociado a un lector Omega HH378), longitud rostro cloacal (SVL), ancho de cabeza (Wh), ancho de abdomen (Wa), alto de abdomen (Ha) con un calibrador digital Stainless Hardened (precisión de 0,01 mm). La temperatura y la humedad relativa fueron tomadas cada 10 segundos durante las tres fases de los experimentos por los registradores automáticos descritos anteriormente.

La actividad de cada individuo dentro de la cámara central (correspondiente a la fase dos) fue registrada: movimiento corporal, tiempo en que la rana mantuvo la postura de conservación de agua, posición del individuo con respecto a la cámara (entrada, mitad,

salida) y al flujo de aire (a favor, en contra, transversal). Estas variables se registraron cada 10 segundos por medio de fotografías.

4.5. MODELOS DE AGAR

Para poder determinar si existe algún tipo de resistencia cutánea para evitar la pérdida de agua, se compararon las tasas de desecación de las ranas vivas con las tasas obtenidas con modelos hechos de agar. Estos últimos fueron elaborados con similar forma, tamaño y color a las ranas vivas (Fig. 2). Para realizar los moldes, las ranas reales fueron anestesiadas con tricaina metasulfonato (MS-222) al 15 % (Cakirl y Strauch, 2005; Stuart, Chanson, Cox, Young y Rodrigues, 2007), luego fueron embebidas en material para impresión dental Alginato (Tulip Colorswitch Cavex) por pocos segundos, hasta lograr generar un molde del cuerpo de la rana en postura de conservación de agua.

La impresión se llenó con una solución de agar al 3% con unas gotas de tinte vegetal correspondiente al color de cada especie: café oscuro para *Pristimantis unistrigatus* y verde claro para *Hypsiboas cinerascens*. Cada modelo de agar fue tallado con las correspondientes medidas tomadas de cada individuo y se aplicó la misma metodología que la descrita para las ranas reales en los experimentos de pérdida de agua. El modelo de agar fue colocado en la misma posición con respecto a la cámara y el flujo de aire que la registrada para la correspondiente rana real cuando adquirió la postura de conservación de agua (Spotila y Berman, 1976). Se realizaron tantos experimentos con modelos de agar como experimentos de ranas vivas; un experimento correspondía a un individuo.

Al finalizar cada experimento tanto de las ranas vivas como sus respectivos modelos de agar, los datos colectados por los registradores automáticos se accedieron usando el programa OneWireViewer versión 3.15.50 (Maxim Integrated Products, 2010) y fueron procesados mediante rutinas de programación realizadas en lenguaje R (R Core Team, 2016).

4.6. TASAS DE DESECACIÓN

La fórmula usada para calcular la tasa de pérdida de agua por evapotranspiración (TPE) fue:

$$TPE = \frac{(Pf - Po)}{(Tf - To)} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde TPE corresponde a la tasa de pérdida de agua por evapotranspiración en postura de conservación de agua (g h^{-1}), Pf representa el peso final, Po es el peso inicial de la rana o modelo de agar (g); Tf es el tiempo final del experimento y To indica el tiempo inicial del experimento.

Una rutina de programación en R permitió determinar el periodo más largo en que la rana permaneció en postura de conservación de agua durante el experimento. Se calculó para este periodo de tiempo la tasa de pérdida de agua por evapotranspiración, en base a cálculos de Bernstein y colaboradores (1977) para un sistema de flujo abierto como el que se usó en los experimentos, junto con tablas de densidad de vapor saturado que fueron necesarias para calcular la masa de agua a partir de las mediciones de humedad relativa (Young et al., 2005). Cada valor de pérdida de peso por evapotranspiración fue extrapolado al periodo de una hora.

Para obtener un valor estandarizado de TPE que se pueda comparar entre especies, el valor extrapolado en el paso anterior fue dividido para un estimado de la superficie de piel expuesta mientras la rana permanecía en postura de conservación de agua. Para calcular el área expuesta en esta posición se usaron las fórmulas desarrolladas por Tracy (1976) que usan como base ecuaciones alométricas en función del peso de la rana.

$$A_{SUB} = 0,425W^{0,85} \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$A_{EXP} + A_{SUB} = 12,39 W^{0,559} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde W representa la masa de la rana o modelo, A_{EXP} (área expuesta) es la diferencia de A_{SUB} (área en contacto con el sustrato).

4.7. RESISTENCIAS CUTÁNEAS

Las resistencias cutáneas a la pérdida de agua por evapotranspiración se obtuvieron en base a las fórmulas de Wygoda (1988), donde R_{TOTAL} es la resistencia total en segundos por centímetro. VDD corresponde a la diferencia entre la densidad de vapor de agua saturado a la temperatura corporal y la densidad de vapor de agua a la temperatura del aire, TPE es la tasa de pérdida de agua y A es el área expuesta de la rana mencionada anteriormente.

$$R_{TOTAL} = A \left(\frac{VDD}{TPE} \right) \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$R_{TOTAL} = R_{CLIM} + R_{CUT} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Los modelos de agar presentan resistencia cutánea igual a cero ($R_{CUT} = 0$), por lo que su resistencia total (R_{TOTAL}) se convierte en la (R_{CLIM}) resistencia de la capa límite (capa entre el organismo y el ambiente), de esta manera la (R_{CUT}) resistencia cutánea de las ranas vivas será la diferencia entre la resistencia total y la resistencia de la capa límite.

4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El paquete estadístico que se usó para procesar los datos fue JMP ® versión 9.0.1 (SAS Institute Inc, 2009). Se realizó la prueba estadística no paramétrica de Wilcoxon, para determinar si existen diferencias significativas entre las tasas de pérdida de agua, resistencia cutánea y medidas (SVL, ancho de cabeza, ancho de abdomen y profundidad de abdomen) de las ranas reales y los modelos de agar de cada especie. Previamente, se intentó realizar un análisis de variancia (ANOVA) y una transformación de los datos, pero fueron descartados debido a que los datos no cumplían los supuestos de normalidad. Se usó la misma prueba estadística no paramétrica de Wilcoxon para determinar si existían diferencias significativas entre especies en cuanto a sus tasas de pérdida de agua y resistencias cutáneas.

5. RESULTADOS

5.1. EXPERIMENTOS DE PÉRDIDA DE AGUA

Los experimentos para *Pristimantis unistrigatus* se realizaron en el mes de enero del 2016. 15 individuos entre 1,245 a 3,968 g ($\bar{x} = 2,015$ g, N=15) (Tabla 1) se colocaron en el sistema de desecación. El tiempo que los individuos llegaron a la postura de conservación de agua fue de ($\bar{x} = 18,37 \pm 10,48$) minutos, luego mantenían esta posición hasta finalizar el experimento.

Los experimentos para *Hypsiboas cinerascens* se llevaron a cabo en el mes de mayo del 2016. Se colocaron 15 individuos entre 1,675 a 2,965 g ($\bar{x} = 2,303$ g; N=15) (Tabla 2) dentro del sistema de desecación, esta especie llegó a la posición de conservación de agua más rápido ($\bar{x} = 13,09 \pm 7,6$ minutos) que *P. unistrigatus*.

La Figura 3 ilustra la variación de humedad a lo largo del experimento (datos colectados por los registradores automáticos de temperatura). Los picos de la fluctuación corresponden a fases de movimiento de la rana, mientras que los segmentos de la curva que registran un valor constante de humedad corresponden a los momentos en los que la rana mantuvo la posición de postura de conservación de agua. Para los experimentos con los modelos de agar se observa un flujo constante de humedad y, tanto para *P. unistrigatus* como para *H. cinerascens*, los modelos registraron mayor pérdida de humedad que la registrada para las ranas reales.

5.2. TASAS DE DESECACIÓN

Las tasas de pérdida de agua calculadas para los individuos de *Pristimantis unistrigatus* fue 0.064 g h^{-1} , mientras que la tasa para los modelos de agar de esta especie fue $0,117 \text{ g h}^{-1}$ (Tabla 4). Estos valores difieren significativamente ($p < 0,01$; $Z = -3,7334$; $\text{Std}=3,2141$) indicando una posible estrategia cutánea en contra la desecación (Fig. 4).

Las tasas de pérdida de agua estimadas para la superficie de piel expuesta en los individuos de *P. unistrigatus* presentan diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,0107$; $Z = -2,55315$; $\text{Std}=3,1641$) entre ranas vivas ($0,003815 \text{ g h}^{-1} \text{ cm}^{-2}$) y los modelos de agar ($0,006192 \text{ g h}^{-1} \text{ cm}^{-2}$) (Tabla 4).

Hypsiboas cinerascens registró una tasa de pérdida de agua de $0,080 \text{ g h}^{-1}$, para sus correspondientes modelos de agar la tasa fue de $0,150 \text{ g h}^{-1}$ (Tabla 4), un valor aproximadamente dos veces mayor que la tasa calculada para las ranas reales de esta especie. Estos valores presentan diferencias estadísticas significativas ($p < 0,01$; $Z = -3,7334$; $\text{Std} = 3,2141$) (Tabla 5), por lo que se asume existe una estrategia de resistencia cutánea para evitar la desecación (Fig. 4). Sin embargo, estos resultados podrían ser diferentes porque la medida de profundidad de abdomen de los modelos de agar presentó diferencias significativas ($p < 0,01$; $Z = 3,2356$; $\text{Std} = 3,2141$) con respecto a las ranas reales (Anexo 2).

Las tasas de pérdida de agua estimadas para la superficie de piel expuesta de los individuos de *H. cinerascens* presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$; $Z = -4,1892$; $\text{Std}=3,2145$) entre ranas vivas ($0,004299 \text{ g h}^{-1} \text{ cm}^{-2}$) y los modelos de agar ($0,006759 \text{ g h}^{-1} \text{ cm}^{-2}$) (Tabla 4).

Las diferencias para las tasas de pérdida de agua entre las especies *P. unistrigatus* e *H. cinerascens* no fueron significativas ($p = 0,0512$; $Z = -1,9494$; $\text{Std}=3,2145$); pero si consideramos la tasa de pérdida de agua tomando en cuenta la superficie de exposición (Fig. 4), existieron diferencias significativas ($p < 0,05$; $Z = -2,0324$; $\text{Std}=3,2145$) (Tabla 5).

5.3. PORCENTAJE DE PÉRDIDA DE PESO Y TIEMPO LÍMITE DE EXPOSICIÓN

El porcentaje de pérdida de peso por hora en las ranas de *Pristimantis unistrigatus* fue de $3,763 \%$ de su peso total. Con este porcentaje y bajo medidas controladas de laboratorio, es decir con una corriente de aire de 102 ml min^{-1} , una temperatura aproximada de $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y aire completamente seco, esta especie podría aproximarse a su límite letal por desecación en $11,6$ horas (Tabla 6). El porcentaje de pérdida de peso por hora en las ranas de *Hypsiboas cinerascens* fue de $7,081\%$. El tiempo máximo bajo

condiciones de laboratorio a las cuales esta especie se acercaría a su límite letal por desecación (pérdida del 40% de su peso) fue de 5,9 horas.

5.4. RESISTENCIAS CUTÁNEAS

La resistencia total a la pérdida de agua en *Pristimantis unistrigatus* difiere estadísticamente ($p < 0,01$; $Z = 4,7277$; $\text{Std}=3,1586$) entre ranas vivas ($2,814 \text{ cm s}^{-1}$) y los modelos de agar ($2,117 \text{ cm s}^{-1}$). Los valores de resistencia para *Hypsiboas cinerascens* también presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,01$; $Z = 4,0238$; $\text{Std}=3,214$) entre las ranas ($3,082 \text{ cm s}^{-1}$) y los modelos de agar ($2,219 \text{ cm s}^{-1}$) (Tabla 6).

Las resistencias cutáneas calculadas de las ranas entre las especies *P. unistrigatus* ($0,712 \text{ cm s}^{-1}$) e *H. cinerascens* ($0,860 \text{ cm s}^{-1}$) no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p = 0,263$; $Z = -1,119$; $\text{Std}=3,2145$) (Tabla 7; Fig. 5).

6. DISCUSIÓN

6.1. TASAS DE DESECACIÓN

La pérdida de agua por evapotranspiración se da cuando se ha eliminado la capa límite (capa entre el organismo y el ambiente en el cual reside) (Hillman, 2009). La diferencia de humedad relativa entre el ambiente y el organismo hace que esta pérdida se incremente (Tracy, Christian y Tracy, 2010), tal como se pudo observar en las gráficas correspondientes a los experimentos realizados. En las dos especies, los picos de humedad relativa corresponden al movimiento de la rana (Fig. 3) y esta humedad se incrementa debido a que existe mayor superficie expuesta.

Uno de los métodos para estimar la Pérdida de Agua por Evapotranspiración (PAE) es el uso de métodos gravimétricos (aquí PAE es determinada como pérdida de peso, ver (Duellman y Trueb, 1994). Esta pérdida puede ser explicada por diversos factores como hábitos ecológicos de cada especie, dimensiones, forma, tamaño y superficie expuesta de los individuos (Navas y Araujo, 2000; Tracy, Betts, y Christian, 2007).

Nuestro estudio estimó esta pérdida en $0,064 \text{ g h}^{-1}$ para *Pristimantis unistrigatus* y en $0,080 \text{ g h}^{-1}$ para *Hypsiboas cinerascens*. Esta discrepancia puede deberse a las diferencias en cuanto a su morfología. Una mayor superficie expuesta representa una mayor tasa de pérdida de agua (Tracy et al., 2010), *H. cinerascens* presentó una mayor tasa de pérdida de agua que *P. unistrigatus* así como mayor superficie expuesta ($18,830$ y $17,321 \text{ cm}^2$ respectivamente). *P. unistrigatus* registró menor tasa de PAE que *H. cinerascens* esto posiblemente porque el ambiente de *P. unistrigatus* que presenta períodos de sequía ha hecho que su estrategia de resistencia cutánea sea más eficiente que la de *H. cinerascens*.

Uno de los mecanismos comportamentales que disminuye la pérdida de agua por evaporación es la postura de conservación de agua. Esta postura fue identificada tanto en *P.unistrigatus* como en *H. cinerascens* en la que las ranas acercan sus extremidades hacia el cuerpo bajan la cabeza y presionan su superficie ventral hacia el substrato, exponiendo

al aire menor cantidad de piel y así se reduce la pérdida de agua de sus cuerpos (Heatwole, Torres, De Austin y Heatwole, A., 1969).

Las TPE en nuestros modelos de agar fueron mayores que las tasas calculadas para las ranas vivas en postura de conservación de agua (Tabla 4). La presencia o ausencia de resistencia cutánea en las ranas está definida mediante la diferencia en el valor absoluto de las tasas de pérdida de agua, calculadas para las ranas vivas y los modelos de agar (Young et al, 2005; Rowley y Alford, 2009), si la rana real pierde menos peso que su respectivo modelo de agar asumimos que existe resistencia cutánea en esa especie (Fig. 4).

Para *P. unistrigatus* estas estimaciones tienen soporte ya que los modelos de agar creados no presentan diferencias estadísticas (Tabla 3) en cuanto a sus pesos iniciales. *H. cinerascens* presentó diferencias significativas (Tabla 3), provocado por la medida profundidad de abdomen entre las ranas vivas y modelos de agar, que mostró diferencias significativas (Anexo1, Anexo2), es decir esta medida afectó en el peso inicial de los modelos de agar esto debido a que no se realizó suficiente presión en el área abdominal de la rana viva al crear sus moldes. Esto implica que el valor de PAE para *H. cinerascens* podría variar.

Para comparar las tasas de pérdida de agua por evapotranspiración entre especies los valores encontrados se corrigieron en base del área superficial de la piel expuesta (Bentley, 2002). Esta corrección reveló que estas tasas si tuvieron diferencias significativas; el valor calculado para *P. unistrigatus* fue de $0,0038 \text{ g h}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ y para *H. cinerascens* fue de $0,00429 \text{ g h}^{-1} \text{ cm}^{-2}$. Esta diferencia podría deberse a la presencia de estrategias fisiológicas para evitar la pérdida de agua posiblemente motivadas por la propia ecología de cada especie.

6.2. LÍMITES DE DESECACIÓN Y PORCENTAJES DE PÉRDIDA DE AGUA

El contenido de porcentaje de agua en el cuerpo de los anfibios oscila entre 77 y 83% de la masa corporal, siendo el valor más alto reportado entre los vertebrados (Hillman, 2009). Por lo tanto, para los anfibios acercarse o alcanzar sus límites de desecación (esto es disminuir entre el 40 a 50% de su peso por pérdida de agua) puede ser letal (Peters, 1983). En nuestros ensayos, *Pristimantis unistrigatus* registró un porcentaje

de pérdida de peso total por evapotranspiración de 3,763 %, mientras que para *Hypsiboas cinerascens* se registró una pérdida de peso total por evapotranspiración de 7,081%. Los resultados obtenidos se realizaron bajo condiciones de laboratorio controladas con un flujo de aire seco de 102 ml min^{-1} . Sin embargo, estos datos no representan ninguna relevancia biológica, debido a que las ranas no estarían bajo estas condiciones en su ambiente natural.

6.3. RESISTENCIAS CUTÁNEAS

Históricamente se consideraba a la mayoría de anfibios como organismos “típicos”, los cuales perdían agua a la misma tasa que una superficie de agua libre, es decir su resistencia cutánea era igual a cero pensando que todos los anfibios actuaban como los modelos de agar (Bentley, 1966; Wygoda, 1984; Shoemaker et al., 1992). En los últimos 30 años se identificó como “atípicos” o “waterproof” a los anfibios que presentaban resistencia cutánea (R_{CUT}) a la pérdida de agua (Wygoda, 1984; Buttemer, 1990).

Esta característica ha sido reportada para diversas familias: Hylidae, Bufonidae, Microhylidae, Myobatrachidae, Ranidae (Whiters et al., 1984; Wygoda, 1984; Young et al., 2005). Young y colaboradores (2005) definieron que la resistencia cutánea está relacionada con los hábitos ecológicos: especies arbóreas presentaron R_{CUT} altas, especies acuáticas R_{CUT} muy bajas o nulas y especies terrestres R_{CUT} valores intermedios entre estas dos. Nuestros resultados son congruentes con esta investigación, ya que la especie *Hypsiboas cinerascens* (0.860 s cm^{-1}), una rana arbórea, presentó la R_{CUT} más alta en comparación con *Pristimantis unistrigatus* (0.712 s cm^{-1}), una rana terrestre.

Los rangos de las resistencias cutáneas calculados para estos grupos (arbóreos y no arbóreos) varían entre investigadores. Young y colaboradores (2005) definió este rango para ranas arbóreas de entre $0,3$ a 63 s cm^{-1} , mientras que estudios anteriores encontraron para este mismo grupo valores mayores a 100 s cm^{-1} (Shoemaker y McClanahan, 1975). Para la especie arbórea de nuestro estudio (*H. cinerascens*) el valor calculado es similar a lo reportado por Young y colaboradores (2005).

Especies arbóreas representantes de la familia Hylidae presentan altos rangos de resistencia cutánea (Whiters et al., 1984; Wygoda, 1984, Navas, Antoniazzi, y Jared, 2004) debido a que características ecológicas propias dentro de la familia las exponen a sitios

abiertos en comparación a hábitos ecológicos de especies terrestres. Se ha registrado que especies como *Phyllomedusa bicolor* (Boddaert, 1772), *Phyllomedusa hypochondrialis* (Daudin, 1800) impermeabilizan su piel mediante secreciones cerosas (Navas et al., 2004). Observaciones con la especie *Dendrosophus bifurcus* (Anderson, 1945) en experimentos que se están desarrollando bajo la misma metodología en el laboratorio de Ecofisiología de la PUCE han registrado conductas similares (A. Morales y A. Merino-Viteri, datos no publicados).

Una revisión realizada por Lillywhite (2006) reporta que la familia Hylidae presenta resistencia cutánea en el rango de 0 a 457 s cm⁻¹. Ranas arborícolas presentan un gran desafío fisiológico en cuanto a pérdida de agua por evapotranspiración debido a que todo el tiempo se enfrentan a un ambiente hostil. Este microambiente presenta efectos deshidratantes como: el aumento de la velocidad del viento, distancia de agua disponible (Tracy et al., 2010). En respuesta a estas circunstancias este grupo de ranas presentan resistencias cutáneas que les permite explotar este nicho ecológico (arborícola), como en el caso de *H. cinerascens*, quien presenta una resistencia cutánea como mecanismo para enfrentar su exposición al aire diariamente, anfibios expuestos a esta condición pueden perder cantidades considerable de agua por evapotranspiración (Bentley, 2002). Sin embargo, la distribución de *H. cinerascens* generalmente la expone a lugares con humedad ambiental alta dentro de la Amazonía ecuatoriana (Bosque Montano Oriental, Bosque Piemontano Oriental, Bosque Húmedo Tropical Amazónico) (Ron y Read, 2012) que se caracteriza por poseer valores altos de humedad entre 86 y 100% (Campos, 1993) lo cual minimizaría la pérdida de agua por evapotranspiración.

Para especies con hábitos ecológicos terrestres, Young y colaboradores (2005) registran valores de resistencia cutánea (R_{CUT}) para estos grupos, menores que los obtenidos para especies arbóreas. En nuestro caso *P. unistrigatus* responde al trabajo de Young y colaboradores; al registrar un valor menor de R_{CUT} en comparación con la especie arbórea *H. cinerascens*, la investigación más cercana en cuanto a especie relacionada con similar hábito ecológico es la de Pough y colaboradores (1983), quienes encuentran que *Eleutherodactylus coqui* (Thomas, 1966) presenta menor pérdida de agua como resultado de la combinación de postura de conservación de agua (PCA), junto con la reabsorción de agua en la orina de la rana con respecto a individuos que se encontraban en constante movimiento. La primera premisa es similar a nuestros resultados ya que la tasa de PAE

total para *P. unistrigatus* ($0,070 \text{ g h}^{-1}$) fue mayor que la tasa calculada cuando nuestra especie estuvo en posición de conservación de agua ($0,064 \text{ g h}^{-1}$), nuestros valores no pueden ser comparados con los *E. coqui* porque nuestros experimentos fueron realizados bajo condiciones controladas (102 ml min^{-1}) en laboratorio y la investigación de Pough y colaboradores se la realizó en el ambiente natural de la rana.

La ecología de *P. unistrigatus* la expone a lugares húmedos, su pico de actividades se da en épocas lluviosas ya que favorece a su época reproductiva y su actividad es nocturna (Ron et al., 2012), por esta razón la presencia de resistencia cutánea fue inesperada. Nuestros resultados indican que esta especie presenta resistencia cutánea posiblemente para poder enfrentar la estacionalidad de los valles interandinos que habita. En los que existe una marcada diferencia en cuanto a la precipitación y humedad, entre los períodos junio – agosto (período seco) y octubre – mayo (período lluvioso) al igual que el incremento de temperaturas máximas y mínimas en toda la región (Villacis y Taupin, 2003). Debido a estas características ambientales *P. unistrigatus* presentaría esta resistencia para poder enfrentar el periodo seco sin acercarse a su límite letal de pérdida de peso por evapotranspiración.

La diferencia en cuanto al valor calculado de resistencia cutánea para *H. cinerascens* y *P. unistrigatus* es un ejemplo más de la variabilidad de los niveles de R_{CUT} entre familias. Estos niveles dependen de la fisiología y la conducta de los individuos (Toledo y Jared 1993; Lillywhite, 2006; Tracy, Christian, Betts, y Tracy, 2008). Para ranas arbóreas la presencia de secreciones mucosas incrementa la resistencia cutánea (Wygoda 1984; Buttemer et al., 1990; Christian y Parry 1997; Young et al., 2006), así como la presencia de iridóforos dermales los cuales reflejan la luz (Toledo y Jared, 1993).

El estudio realizado por Christian y Parry (1997) reporta que la composición química de las secreciones de la piel para especies con distintos hábitos ecológicos *Litoria caerulea* (Dubois, 2016) y *Cyclorona australis* (Dubois, 2016) rana arbórea y rana terrestre respectivamente presentan características similares (5 – 10 % lípidos y 78 – 85% de material proteico). Al presentar composiciones similares en las secreciones mucosas de la piel podríamos considerar que el comportamiento es el factor más influyente para evitar la PAE. Lo que ha permitido que *H. cinerascens* pueda explotar su nicho arborícola mientras que *P. unistrigatus* se encuentre en un hábitat arbustivo (Ron et al, 2012).

La combinación de características fisiológicas como presencia de resistencia cutánea, junto con características comportamentales como postura de conservación de agua, selección de micro hábitat húmedos han permitido que las puedan colonizar distintos nichos.

Esta investigación es uno de los primeros estudios realizados sobre PAE en anfibios a nivel nacional bajo condiciones controladas de laboratorio. Aportando a la creación de una línea base que permita estimar potenciales efectos de los cambios de humedad en los ambientes naturales y delinear estrategias de conservación para este grupo altamente amenazado. Para futuras investigaciones se recomienda realizar un enfoque holístico tanto fisiológico y ecológico para poder determinar con mayor precisión los factores involucrados en la presencia o ausencia de resistencias cutáneas en anfibios ecuatorianos.

7. CONCLUSIONES

La tasa de pérdida de agua por evapotranspiración de *Pristimantis unistrigatus* en postura de conservación de agua fue de $0,064 \text{ g h}^{-1}$, mientras que para los modelos de agar de esta especie fue de $0,117 \text{ g h}^{-1}$, indicando la presencia de un mecanismo de resistencia cutánea para disminuir esta pérdida, que respondería como estrategia para enfrentar la estacionalidad de los valles interandinos que habita.

La tasa de pérdida de agua por evapotranspiración para *Hypsiboas cinerascens* fue de $0,080 \text{ g h}^{-1}$ en postura de conservación de agua y para los modelos de agar fue de $0,150 \text{ g h}^{-1}$; las diferencias entre las ranas y modelos de agar en esta especie revelan la presencia de algún mecanismo cutáneo para evitar la pérdida de agua por evapotranspiración, como resultado de la exposición al aire que mantiene esta especie al descansar durante el día.

Los porcentajes de pérdida de agua bajo las condiciones de laboratorio fueron 3,76 % para *P. unistrigatus* y 7,08% para *H. cinerascens*. Estos valores les permitirían sobrevivir a condiciones extremas 11,6 y 5,9 horas respectivamente. Sin embargo, estos resultados no presentan relevancia biológica debido a que estas especies no estarían sometidas a estas condiciones en su ambiente natural.

P. unistrigatus presentó una resistencia cutánea de $0,712 \text{ s cm}^{-1}$ mientras que *H. cinerascens* registró el valor de $0,860 \text{ s cm}^{-1}$, estos siguen el patrón de Young y colaboradores (2005) quienes reportan que especies arbóreas presentan resistencias cutáneas más altas que especies terrestres.

Los valores de las resistencias cutáneas podrían ser considerados como un indicador de la vulnerabilidad de las distintas especies a cambios dentro de sus ecosistemas. Especies con resistencias menores serían más susceptibles a estas variaciones.

La combinación de factores ambientales como humedad relativa, temperatura, ausencia de radiación solar, así como propios del organismo temperatura, tamaño, área superficial expuesta, hábitos ecológicos, determinan la tasa de pérdida de agua de los anfibios, este trabajo es un acercamiento para implementar una línea base que pueda iniciar la predicción de potenciales efectos del cambio climáticos en estos organismos.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, L. G. (1945). Batrachians from east Ecuador collected 1937, 1938 by Wm. Clarke–MacIntyre and Rolf Blomberg. *Arkiv för Zoologi*, 37, 1-88.
- Azevedo–Ramos, C., La Marca, E., Coloma, L. A. y Ron, S. (2012). *Hypsiboas cinerascens*. En: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.4 www.iucnredlist.org [consultado 10 de Junio 2016].
- Bentley, P. (1966). Adaptations of amphibia to arid environments. *Science* (New York, NY), 152 (3722), 619.
- Bentley, P. (2002). *Endocrines and osmoregulation: a comparative account in vertebrates*. Vol: 39. Springer Science & Business Media.
- Bernstein, M., Hudson, J., Stearns, A. y Hoyt, R. (1977). Measurement of evaporative water loss in smaller animals by dew point hygrometry. *Journal of Applied Physiology*, 43:382–385.
- Boddaert, P. (1772). Over den Twee-koeurigen Kikvorsch. De rana bicolore. Amsterdam. 41.
- Bradford, D. F. (1984). Temperature modulation in a high-elevation amphibian, *Rana muscosa*. *Copeia*, 4: 966–76.
- Buttemer, W. (1990). Effect of temperature on evaporative water loss of the Australian tree frogs *Litoria caerulea* and *Litoria chloris*. *Physiological Zoology*, 63:1043–1057.
- Cakirl, Y. y Strauch, M. (2005). Tricaine (MS-222) is a safe anesthetic compound compared to benzocaine and pentobarbital to induce anesthesia in leopard frogs (*Rana pipiens*). *Pharmalogical Reports*, 57: 467-474.
- Campos, F. (1998). Informe final del estudio biofísico del Parque Nacional Yasuní. Los ecosistemas del Parque Nacional Yasuní y su estado de conservación. *Corporación Centro de Datos para la Conservación (CDC)*, 7:1–78.
- Christian, K. y Parry, D. (1997). Reduced rates of water loss and chemical properties of skin secretions of the frogs *Litoria caerulea* and *Cyclorana australis*. *Australian Journal of Zoology*, 45:13–20.
- Collevatti, R. G., Terribile, L., Oliveira G., Lima-Ribeiro, M.S., Nabout., J.C., Rangel, T.F., y Diniz, F. (2013). Drawbacks to palaeodistribution modelling: the case of South American seasonally dry forests. *Journal of Biogeography*, 40:345–358.
- Daudin, F. M. (1800). Histoire Naturelle des Quadrupèdes Ovipaires. Livraison 2. Paris: Marchant et Cie.
- Dubois, A., y T. Frétey. (2016). A new nomen for a subfamily of frogs (Amphibia, Anura). *Dumerilia* 6: 17–23.

- Duellman, W. E. y Trueb, L. (1994). *Biology of Amphibians*. Estados Unidos. McGraw-Hill Publishing.
- Eskildsen, A., Roux, P. C., Heikkinen, R. K., Høye, T. T., Kissling, W. D., Pöyry, J., Wisz, M. S., y Luoto, M. (2013). Testing species distribution models across space and time: high latitude butterflies and recent warming. *Global Ecology and Biogeography*, 22:1293–1303.
- Günther, A. C. 1859. Second list of cold-blooded Vertebrata collected by Mr. Fraser in the Andes of western Ecuador. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1859:402-422.
- Haddad, F. B., y Prado, C. P. (2005). Reproductive Modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience*, 55(3): 207-217.
- Hasegawa, M., Suzuki, Y., y Wada, S. (2005). Design and performance of a wet sponge model for amphibian thermal biology. *Current Herpetology*, 24: 27–32.
- Heatwole, H., Torres, F., De Austin, S. B., y Heatwole, A. (1969). Studies on anuran water balance—I. Dynamics of evaporative water loss by the coqui, *Eleutherodactylus portoricensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 28(1): 245-269.
- Hillman, S. S., Withers, P. C., Drewes, R. C. y Hillyard, S. D. (2009). *Ecological and Environmental Physiology of Amphibians*. Oxford university Press. Vol 1. Estados Unidos de America.
- Hoffmann, M., Hilton-Taylor, C., Angulo, A., Böhm, M., Brooks, T. M., Butchart, S. H. M., Carpenter, K. E., Chanson, J., Collen, B., Cox, N. A., Darwall, W. R. T., Dulvy, N. K., Harrison, L. R., Katariya, V., Pollock, C. M., Quader, S., Richman, N. I., Rodrigues, A. S. L., Tognelli, M. F., Vié, J. C., Aguiar, J. M., Allen, D. J., Allen, G. R., Amori, G., Ananjeva, N. B., Andreone, F., Andrew, P., Ortiz, A. L. A., Baillie, J. E. M., Baldi, R., Bell, B. D., Biju, S. D., Bird, J. P., Black-Decima, P., Blanc, J. J., Bolaños, F., Bolivar, G. W., Burfield, I. J., Burton, J. A., Capper, D. R., Castro, F., Catullo, G., Cavanagh, R. D., Channing, A., Chao, N. L., Chenery, A. M., Chiozza, F., Clausnitzer, V., Collar, N. J., Collett, L. C., Collette, B. B., Fernandez, C. F. C., Craig, M. T., Crosby, M. J., Cumberlidge, N., Cuttelod, A., Derocher, A. E., Diesmos, A. C., Donaldson, J. S., Duckworth, J. W., Dutson, G., Dutta, S. K., Emslie, R. H., Farjon, A., Fowler, S., Freyhof, J., Garshelis, D. L., Gerlach, J., Gower, D. J., Grant, T. D., Hammerson, G. A., Harris, R. B., Heaney, L. R., Blair Hedges, S., Hero, J. M., Hughes, B., Hussain, S. A., Icochea, M. J., Inger, R. F., Ishii, N., Iskandar, D. T., Jenkins, R. K. B., Kaneko, Y., Kottelat, M., Kovacs, K. M., Kuzmin, S. L., La Marca, E., Lamoreux, J. F., Lau, M. W. N., Lavilla, E. O., Leus, K., Lewison, R. L., Lichtenstein, G., Livingstone, S. R., Lukoschek, V., Mallon, D. P., McGowan, P. J. K., McIvor, A., Moehlman, P. D., Molur, S., Alonso, A. M., Musick, J. A., Nowell, K., Nussbaum, R. A., Olech, W., Orlov, N. L., Papenfuss, T. J., Parra-Olea, G., Perrin, W. F., Polidoro, B. A., Pourkazemi, M., Racey, P. A., Ragle, J. S., Ram, M., Rathbun, G., Reynolds, R. P., Rhodin, A. G. J., Richards, S. J., Rodríguez, L. O., Ron, S. R., Rondinini, C., Rylands, A. B., Mitcheson, Y. S., Sanciangco, J. C., Sanders, K. L., Santos-Barrera, G., Schipper, J., Self-Sullivan, C., Shi, Y., Shoemaker, A., Short, F. T., Sillero-Zubiri, C., Silvano, D. L., Smith, K. G., Smith, A. T., Snoeks, J., Stattersfield, A. J., Symes, A. J., Taber, A. B., Talukdar, B. K., Temple, H. J., Timmins, R., Tobias, J. A., Tsytulina, K., Tweddle, D., Ubeda, C., Valenti, S. V., Van Dijk, P. P., Veiga, L. M., Veloso, A., Wege, D. C., Wilkinson, M., Williamson, E. A., Xie, F., Young, B. E.,

- Akçakaya, H. R., Bennun, L., Blackburn, T. M., Boitani, L., Dublin, H. T., da Fonseca, G. A. B., Gascon, C., Lacher Jr., T. E., Mace, G. M., Mainka, S. A., McNeely, J. A., Mittermeier, R. A., Reid, G. M., Rodriguez, J. P., Rosenberg, A. A., Samways, M. J., Smart, J., Stein, B. A., y Stuart, S. N. The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science*, 330, 1503–1509. doi: 10.1126/science.1194442
- Laurenti, J. N. (1768). Specimen medicum, exhibens synopsis reptilium emendatam cum experimentis circa venena et antidota reptilium austracorum, quod autoritate et consensu. Joan. Thomae, Vienna, 217 pp.
- Lillywhite, H. B. (2006). Water relations of tetrapod integument. *Journal of Experimental Biology*, 209(2), 202–226. doi:10.1242/jeb.02007
- Kaufmann, K. y Dohmen, P. (2016). Adaption of a dermal in vitro method to investigate the uptake of chemicals across amphibian skin. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 1.
- Maxim Integrated Products. (2010). OneWireViewer versión 3.15.50
- Navas, C. A. y Araujo, C. (2000). The use of agar models to study amphibian thermal ecology. *Journal of Herpetology*, 34: 330–4.
- Navas, C. A., Antoniazzi, M. M., y Jared, C. (2004). A preliminary assessment of anuran physiological and morphological adaptation to the Caatinga, a Brazilian semi-arid environment. In International congress series. *Elsevier*, 1275: 298–305.
- Ochoa-Ochoa, L. M., Rodríguez, P., Mora, F., Flores-Villela, O., y Whittaker, R. J. (2012). Climate change and amphibian diversity patterns in Mexico. *Biological Conservation*, 150:94–102.
- Pacifici, M., Foden, W. B., Visconti, P., Watson, J. E., Butchart, S. H., Kovacs, K. M., Scheffers, B., Hole, D., Martin, T. G., Resit Akçakaya, H., Corlett, R. T., Huntley, B., Bickford, D., Carr, J. A., Hoffmann, A. A., Midgley, G. F., Pearce-Kelly, P., Pearson, R. G., Williams, S.G., Willis, S. G., Young, B. y Rondinini, C. (2015). Assessing species vulnerability to climate change. *Nature Climate Change*, 5(3), 215–224. doi: 10.1038/nclimate2448
- Páez-Vacas, M. I., Coloma, L. A., y Santos, J. C. (2010). Systematics of the *Hyloxalus bocagei* complex (Anura: Dendrobatidae), description of two new cryptic species, and recognition of *H. maculosus*. *Zootaxa* 2711:175.
- Peters, R. H. (1983). *The ecological implications of body size*. Cambridge University Press.
- Pough, F. H., Taigen, T. L., Stewart, M., y Brussard, P. (1983). Behavioral Modification of Evaporative Water Loss by a Puerto Rican Frog. *Ecological Society of America*, 2: 244–252.
- R Core Team. (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Romero Barreto, P. G. (2013). *Requerimientos fisiológicos y microambientales de dos especies de anfibios (Scinax ruber e Hyloxalus yasuni) del bosque tropical de Yasuní y sus*

implicaciones ante el cambio climático. (Disertación de pregrado). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

- Ron, R., S., Duellman, W., E., Coloma, L., A., y Bustamante, M., R. (2003). Population Decline of the Jambato Toad *Atelopus ignescens* (Anura: Bufonidae) in the Andes of Ecuador. *Journal of Herpetology*, 37(1):116-126.
- Ron, S. R. y Read, M. (2012). *Hypsiboas cinerascens*. En: Ron, S. R., Guayasamin, J. M., Yanez-Muñoz, M. H., Merino-Viteri, A., Ortiz, D. A. y Nicolalde, D. A. 2016. AmphibiaWebEcuador. Version 2016.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <<http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1319>>, [acceso junio 10, 2016].
- Ron, S. R., Frenkel, C., Varela-Jaramillo, A. y Guayasamín, J. M. (2012). *Pristimantis unistrigatus*. En: Ron, S. R., Guayasamin, J. M., Yanez-Muñoz, M. H., Merino-Viteri, A., Ortiz, D. A. y Nicolalde, D. A. (2016). AmphibiaWebEcuador. Version 2016.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <<http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/anfibios/FichaEspecie.aspx?Id=1489>>, [acceso junio 20, 2016]
- Ron, S. R., Guayasamin, J. M., Yanez-Muñoz, M. H., Merino-Viteri, A. Ortiz, D. A. y Nicolalde, D. A. (2016). AmphibiaWebEcuador. Version 2016.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios> [acceso 16 de junio 2016].
- Rowley, J. y Alford, R. A. (2009). Models in field studies of temperature and moisture. En: Dood, K. (Ed.), *Amphibian Ecology and Conservation: A handbook of Techniques*. (pp. 389-393). ISBN-13: 978-0199541195.
- SAS Institute Inc. (2009). Statistical discovery software, JMP® 8, Cary, North Carolina, USA. URL <https://www.jmp.com>
- Seebacher, F. y Alford, R. A. (2002). Shelter microhabitats determine body temperature and dehydration rates of a terrestrial amphibian (*Bufo marinus*). *Journal of Herpetology*, 36: 69–75.
- Shoemaker, V. H. y McClanahan, L. L. (1975). Evaporative water loss, nitrogen excretion and osmoregulation in phyllomedusine frogs. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 100(4): 331-345.
- Shoemaker, V. H., Hillman, S., Hillyard, S. D. Jackson, D., McClanahan, L. L., Withers, P. y Wygoda, M. (1992). Exchange of water, ions, and respiratory gases in terrestrial amphibians. En: M.E. Feder and W.W. Burggren (eds). *Environmental Physiology of the Amphibia*: 125-150. University of Chicago Press, Chicago.
- Spix, J. B. 1824. *Animalia nova sive Species novae Testudinum et Ranarum quas in itinere per Brasiliam annis MDCCCXVII-MDCCCXX jussu et auspiciis Maximiliani Josephi I. Bavariae Regis*. Typis Franc. Seraph, Hübschmanni, Munich, Germany.

- Spotila, J., y Berman, E. (1976). Determination of skin resistance and the role of the skin in controlling water loss in amphibians and reptiles. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 55: 407-411.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., y Rodrigues, A. S. L. (2007). A comparison of the effectiveness of recommended doses of MS-222 (tricaine methanesulfonate) and Orajel®(benzocaine) for amphibian anesthesia. *Herpetological Review*, 38(1), 63-66.
- Telles, D. O. C., Vaz, S. A. F., y Menin, M. (2013). Reproductive biology, size and diet of *Hypsiboas cinerascens* (Anura: Hylidae) in two urban forest fragments in Central Amazonia, Brazil. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 12(1), 69-76.
- Toledo, R. C., y Jared, C. (1993). Cutaneous adaptations to water balance in amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 105(4): 593-608.
- Tracy, C. R. (1976). A model of the dynamic exchanges of water and energy between a terrestrial amphibian and its environment. *Ecological Monographs*, 46:23–326.
- Tracy, C. R., Betts, G., Tracy, C. R., y Christian, K. A. (2007). Plaster models to measure operative temperatures and evaporative water loss of amphibians. *Journal of Herpetology*, 41: 597–603.
- Tracy, C. R., Christian, K. A., Betts, G., y Tracy, C. R. (2008). Body temperature and resistance to evaporative water loss in tropical Australian frogs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 150(2), 102-108. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.04.031
- Tracy, C. R., Christian, K. A., y Tracy, C. R. (2010). Not just small, wet, and cold: effects of body size and skin resistance on thermoregulation and arboreality of frogs. *Ecology*, 91(5): 1477-1484.
- Tracy, C. R., Tixier, T., Le Nöene, C., y Christian, K. (2014). Field hydration state varies among tropical frog species with different habitat use. *Physiological and biochemical zoology*, 87: 197-202.
- Uchiyama, M. y Konno, N. (2006). Hormonal regulation of ion and water transport in anuran amphibians. *General and Comparative Endocrinology*, 147: 54–61.
- Villacis, M., y Taupin, J. D. (2003). Variabilité climatique dans la sierra équatorienne en relation avec le phénomène ENSO. In Hydrology of Mediterranean and Semiarid Regions: Papers Selected for the International Conference on Hydrology of the Mediterranean and Semi-Arid Regions, Held in Montpellier, France from 1 to 4 April 2003 (No. 278). *International Assn of Hydrological Sciences*.
- Wells, K. D. (2007). *The ecology and behavior of amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago.

- Withers, P. C., Hillman, S. S., and Drewes, R. C. (1984). Evaporative water loss and skin lipids of anuran amphibians. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 232(1), 11-17. doi: 10.1002/jez.1402320103
- Wright, K. M., y Whitaker, B. R. (2001). *Amphibian medicine and captive husbandry*. Krieger Publishing Company.
- Wygodá, M. L. (1984). Low cutaneous evaporative water loss in arboreal frogs. *Physiological Zoology*, 57:329–337
- Wygodá, M. L. (1988). Adaptive control of water loss resistance in an arboreal frog. *Herpetologica*, 44: 251–257.
- Wygodá, M. L., Dabruzzi, T. F., y Bennett, W. (2011). Cutaneous Resistance to Evaporative Water Loss in the Crab-eating Frog (*Fejervarya cancrivora*). *Journal of Herpetology*, 45: 417-420.
- Young, J. E., Christian, K., Donnellan, S., Tracy, C., R. y Parry, D. (2005). Comparative analysis of cutaneous evaporative water loss in frogs demonstrates correlation with ecological habits. *Physiological and biochemical zoology*, 5: 847-856.
- Young, J. E., Tracy, C. R., Christian, K. A., y McArthur, L. J. (2006). Rates of cutaneous evaporative water loss of native Fijian frogs. *Copeia*, 2006(1): 83-88.

9. FIGURAS

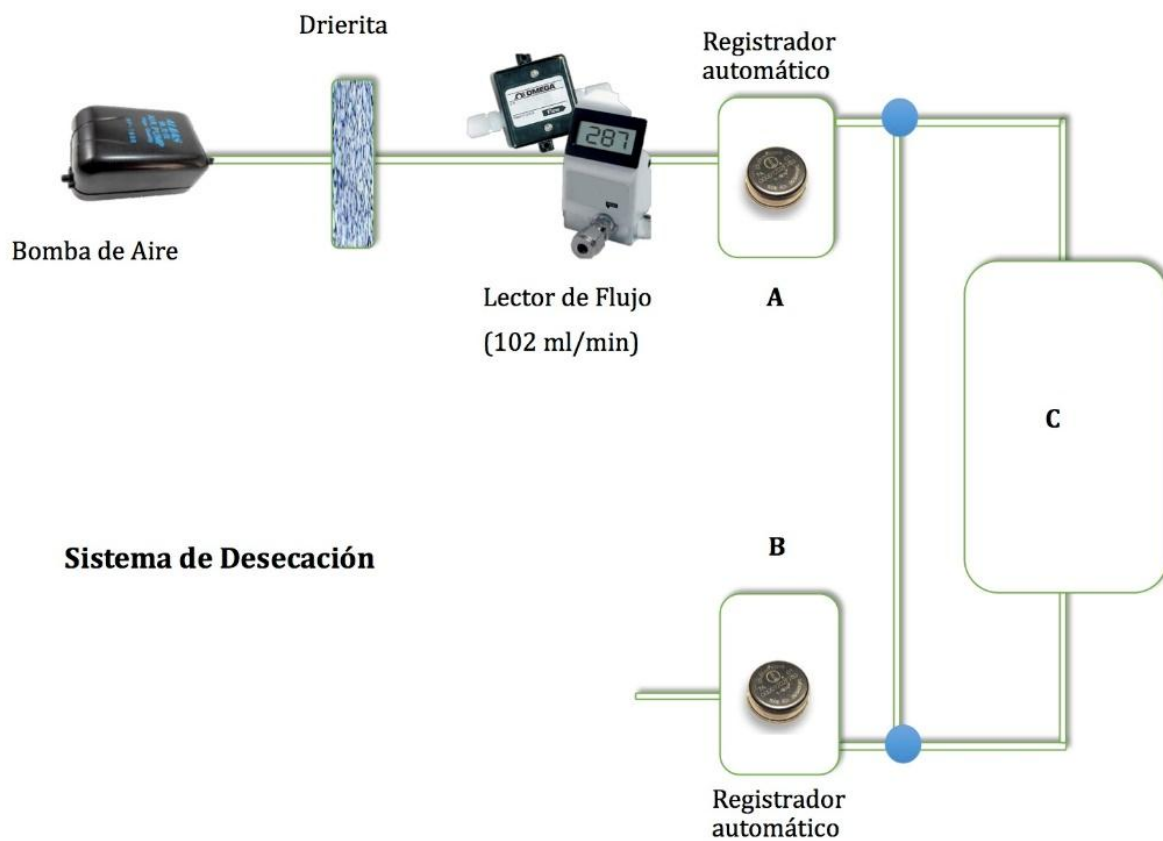


Figura 1. Sistema de Dsecación. A y B son cámaras de cristal con registradores automáticos de temperatura y humedad relativa; C es la cámara de cristal donde será colocada la rana viva o el modelo de agar durante el experimento.

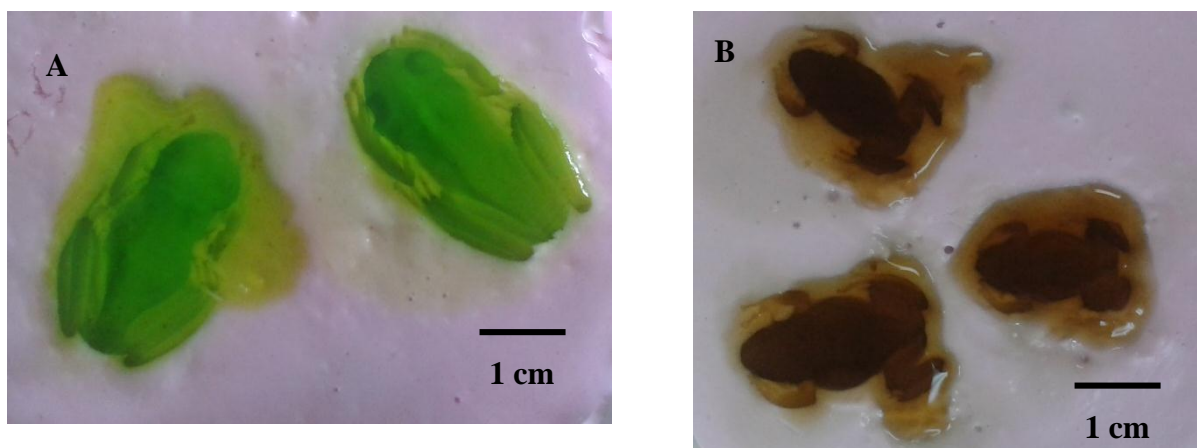


Figura 2. Modelos de Agar realizados en base a color y forma de las especies estudiadas *Hypsiboas cinerascens* y *Pristimantis unistrigatus*. A, modelos de agar para *H. cinerascens*; B, modelos de agar para *P. unistrigatus*.

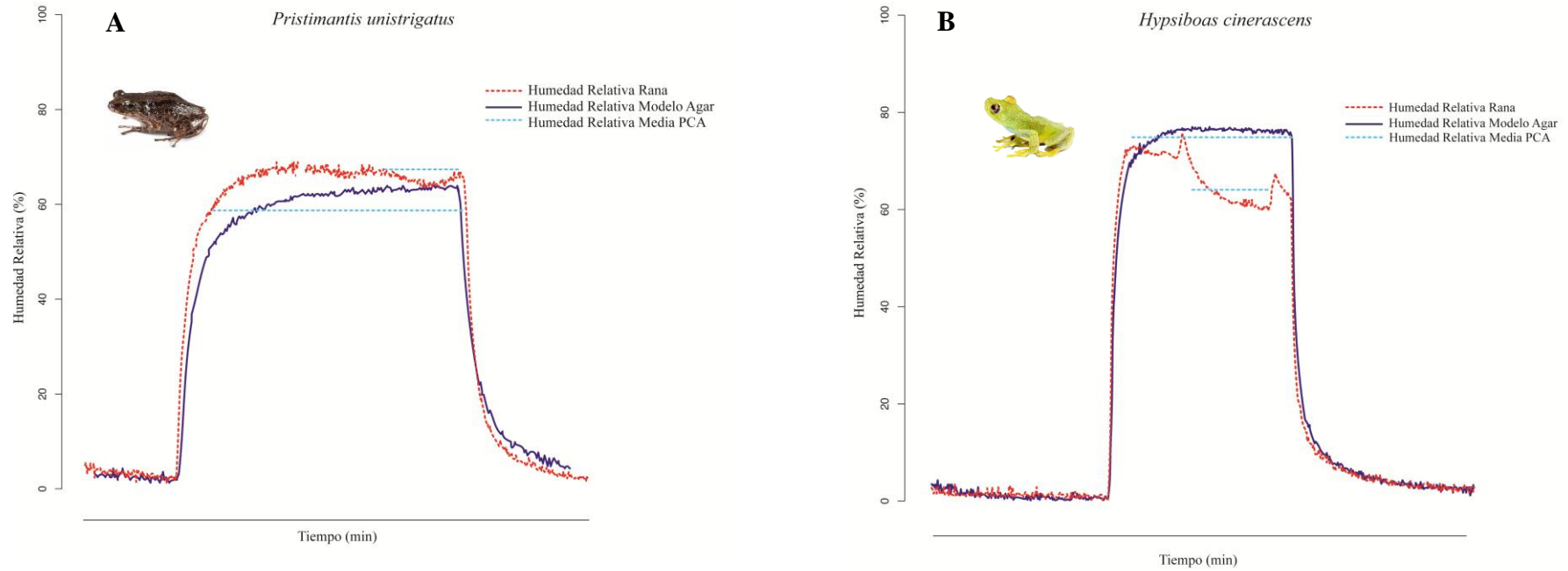


Figura 3. Gráfico de la humedad relativa registrada a través del tiempo. La línea roja representa la humedad relativa para la rana real, la línea azul representa la humedad relativa correspondiente a los modelos de agar y la línea celeste representa la humedad relativa en postura de conservación de agua. Los gráficos son representaciones de la humedad registrada para un solo individuo. A, gráfico para rana real y modelo de agar de *Pristimantis unistrigatus*; B, gráfico para rana real y modelo de agar de *Hypsiboas cinerascens*.

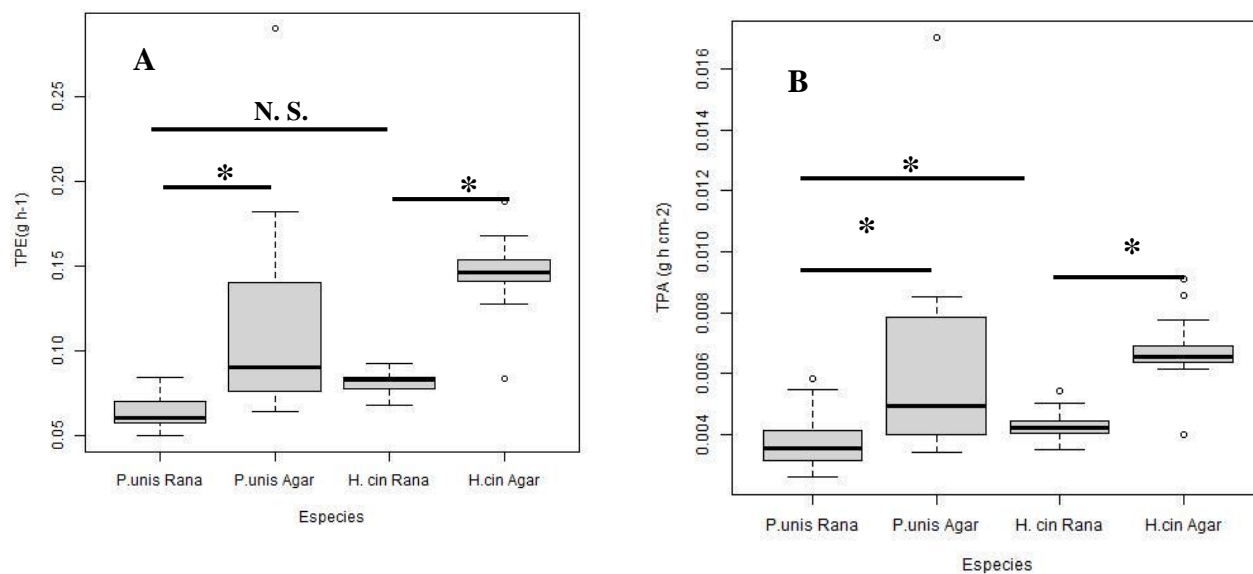


Figura 4. Tasas de pérdida de agua para *P. unistrigatus* e *H. cinerascens* TPE (g h⁻¹) = Tasas de pérdida de agua valores brutos; TPA (g h cm⁻²) = Tasas de pérdida de agua por superficie de piel expuesta. Los extremos de las barras indican los tratamientos comparados con el análisis estadístico y la significancia se muestra sobre la barra (N.S. = no significativo, * = diferencias significativas $p < 0.05$) entre los experimentos realizados.

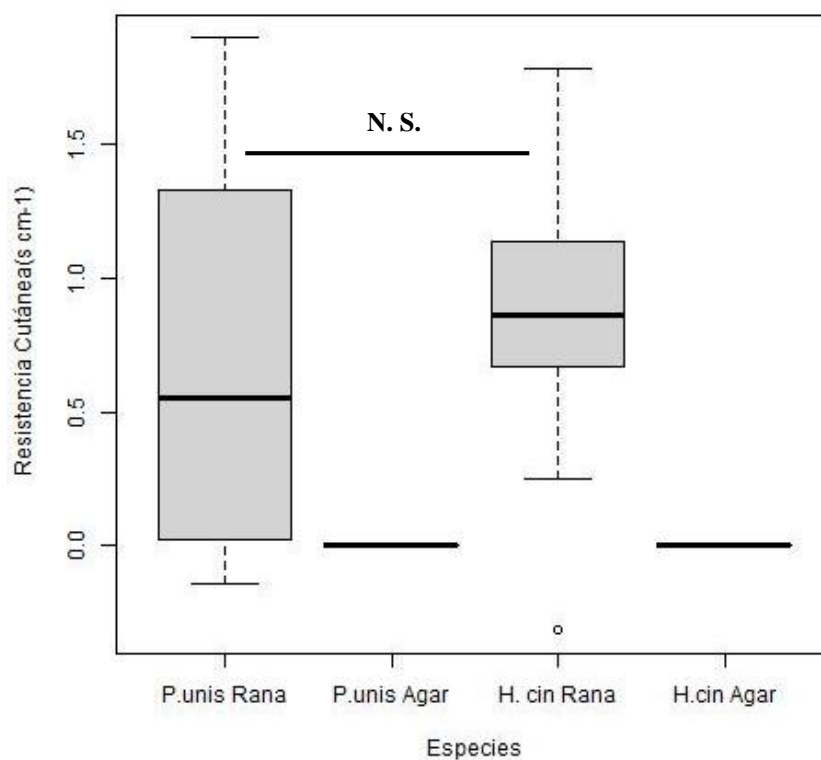


Figura 5. Resistencia cutánea a la pérdida de agua por evapotranspiración. Resistencia cutánea en ranas *H.cinerascens* y *P.unistrigatus*, los modelos de agar presentan resistencia cutánea igual a cero. Los extremos de la barra indican los tratamientos comparados con el análisis estadístico y la significancia se muestra sobre la barra (N.S. = no significativo, * = diferencias significativas $p < 0.05$) entre los experimentos realizados.

10. TABLAS

Tabla 1. Datos gravimétricos de *Pristimantis unistrigatus* tomados en experimentos de desecación bajo condiciones de laboratorio (flujo de aire seco = 102 ml min⁻¹, temperatura = 20°C).

Rana				Modelo de Agar			
Código	Po(g)	Pf(g)	TPE(gh ⁻¹)	Código	Po(g)	Pf(g)	TPE(gh ⁻¹)
PU001	2,039	1,985	0,054	MAPU001	2,754	2,716	0,075
PU002	2,097	1,998	0,099	MAPU002	1,067	1,034	0,065
PU003	2,735	2,634	0,101	MAPU003	3,110	3,071	0,077
PU004	3,968	3,898	0,069	MAPU004	3,133	3,078	0,110
PU005	2,236	2,176	0,060	MAPU005	2,646	2,611	0,069
PU006	1,871	1,814	0,056	MAPU006	1,860	1,828	0,064
PU62926	2,457	2,384	0,073	MAPU62926	2,818	2,728	0,180
PU62925	2,228	2,176	0,084	MAPU62925	2,958	2,867	0,182
PU62933	1,392	1,327	0,064	MAPU62933	2,247	2,168	0,157
PU62930	1,311	1,247	0,063	MAPU62930	1,832	1,771	0,122
PU62932	1,309	1,256	0,052	MAPU62932	1,782	1,744	0,076
PU62929	1,639	1,557	0,082	MAPU62929	2,874	2,829	0,089
PU62924	1,365	1,302	0,062	MAPU62924	1,909	1,764	0,290
PU62934	2,339	2,273	0,064	MAPU62934	3,009	2,959	0,096
PU62935	1,245	1,181	0,064	MAPU62935	1,914	1,869	0,089
$\bar{x} \pm sd$	2,015 ± 0.72		0,064 ± 0.09		2,394 ± 0,63		0,117 ± 0.06

Po = peso inicial; Pf = peso final; TPE = tasa de pérdida de agua por evapotranspiración.

Tabla 2. Datos gravimétricos de *Hypsiboas cinerascens* tomados en experimentos de desecación bajo condiciones de laboratorio (flujo de aire seco = 102 ml min⁻¹, temperatura = 20° C).

Rana				Modelo de Agar			
Código	Po(g)	Pf(g)	TPE(gh ⁻¹)	Código	Po(g)	Pf(g)	TPE(gh ⁻¹)
HC001	2,639	2,568	0,141	MAHC001	2,717	2,623	0,188
HC002	2,777	2,698	0,158	MAHC002	3,193	3,120	0,146
HC003	2,111	2,051	0,120	MAHC003	3,380	3,307	0,146
HC004	2,262	2,120	0,284	MAHC004	2,491	2,427	0,128
HC005	2,569	2,500	0,138	MAHC005	3,208	3,137	0,142
HC006	2,965	2,858	0,207	MAHC006	3,225	3,155	0,140
HC007	1,870	1,804	0,132	MAHC007	3,053	2,981	0,144
HC008	2,662	2,581	0,162	MAHC008	2,753	2,680	0,146
HC009	1,987	1,927	0,120	MAHC009	2,582	2,515	0,133
HC010	2,282	2,197	0,170	MAHC010	3,755	3,673	0,164
HC011	2,285	2,203	0,158	MAHC011	3,257	3,182	0,150
HC012	2,148	2,062	0,172	MAHC012	3,164	3,086	0,156
HC013	1,675	1,602	0,146	MAHC013	2,469	2,393	0,152
HC014	2,442	2,358	0,168	MAHC014	2,756	2,684	0,143
HC015	1,878	1,809	0,138	MAHC015	2,466	2,382	0,168
$\bar{x} \pm sd$	2,303±0,37		0,080± 0,07		2,965±0,38		0,150±0,04

Po = peso inicial; Pf = peso final; TPE = tasa de pérdida de agua por evapotranspiración

Tabla 3. Valores para prueba de Wilcoxon para peso inicial entre ranas vivas y sus modelos de agar.

Especie	Tipo de experimento	Po (g)	Std	Z value	p-Value
<i>P. unistrigatus</i>	Rana	2,015 ±0,72			
<i>P. unistrigatus</i>	Agar	2,394±0,63	3,2145	-1,7006	0,089
<i>H. cinerascens</i>	Rana	2,303±0,37			
<i>H. cinerascens</i>	Agar	2,965±0,38	3,2145	-3,6085	0,003 *

Los valores de Po (g) = peso inicial, está expresados como (media ± desviación estándar); * representa valores de significancia entre las ranas vivas y los modelos de agar $p < 0,05$.

Tabla 4. Tasas de pérdida de agua valores en bruto, Tasa de Pérdida de Agua por evapotranspiración ajustada a la superficie expuesta en postura de conservación de agua.

Especie	Modelo	TPE(gh ⁻¹)	p-Value	TPA(gh ⁻¹ cm ⁻²)	p-Value
<i>P. unistrigatus</i>	Rana	0.064 ± 0.09		0.003815 ± 0.0009	
<i>P. unistrigatus</i>	Agar	0.117 ±0.06	*	0.006196 ±0.0035	*
<i>H. cinerascens</i>	Rana	0.080± 0.07		0.004299± 0.00048	
<i>H. cinerascens</i>	Agar	0.150±0.04	*	0.006759±0.0011	*

Los valores de TPE (tasas de pérdida de agua por evapotranspiración) y TPA (tasas de pérdida de agua por superficie de piel expuesta), están expresados como (media ± desviación estándar); los * representan valores de significancia entre las ranas vivas y los modelos de agar * $p < 0.05$.

Tabla 5. Valores para la prueba de Wilcoxon para Tasas de Pérdida de Agua por Evapotranspiración entre las ranas vivas.

Especie	TPE(gh⁻¹)	Std	Z value	p-Value	TPA(gh⁻¹cm⁻²)	Std	Z value	p-Value
<i>P. unistrigatus</i>	0.064 ± 0.09				0.003815 ± 0.0009			
<i>H. cinerascens</i>	0.080± 0.07	3.2145	-1.9494	0.0512	0.004299± 0.00048	3.2145	-2.0324	0.045 *

Los valores de TPE (tasas de pérdida de agua por evapotranspiración) y TPA (tasas de pérdida de agua por superficie de piel expuesta), están expresados como (media ± desviación estándar); los * representan valores de significancia entre las ranas vivas, $p < 0.05$ de las dos especies.

Tabla 6. Porcentajes de pérdida de agua y tiempo límite letal bajo condiciones de laboratorio.

Especie	Modelo	%PP(h)	Tmáx(h)
<i>P. unistrigatus</i>	Rana	3.763 ±1.06	11.646±4.07
<i>P. unistrigatus</i>	Agar	5.186±3.20	9.680±4.037
<i>H. cinerascens</i>	Rana	7.081±1.81	5.913±1.159
<i>H. cinerascens</i>	Agar	5.135±0.856	7.968 ±1.161

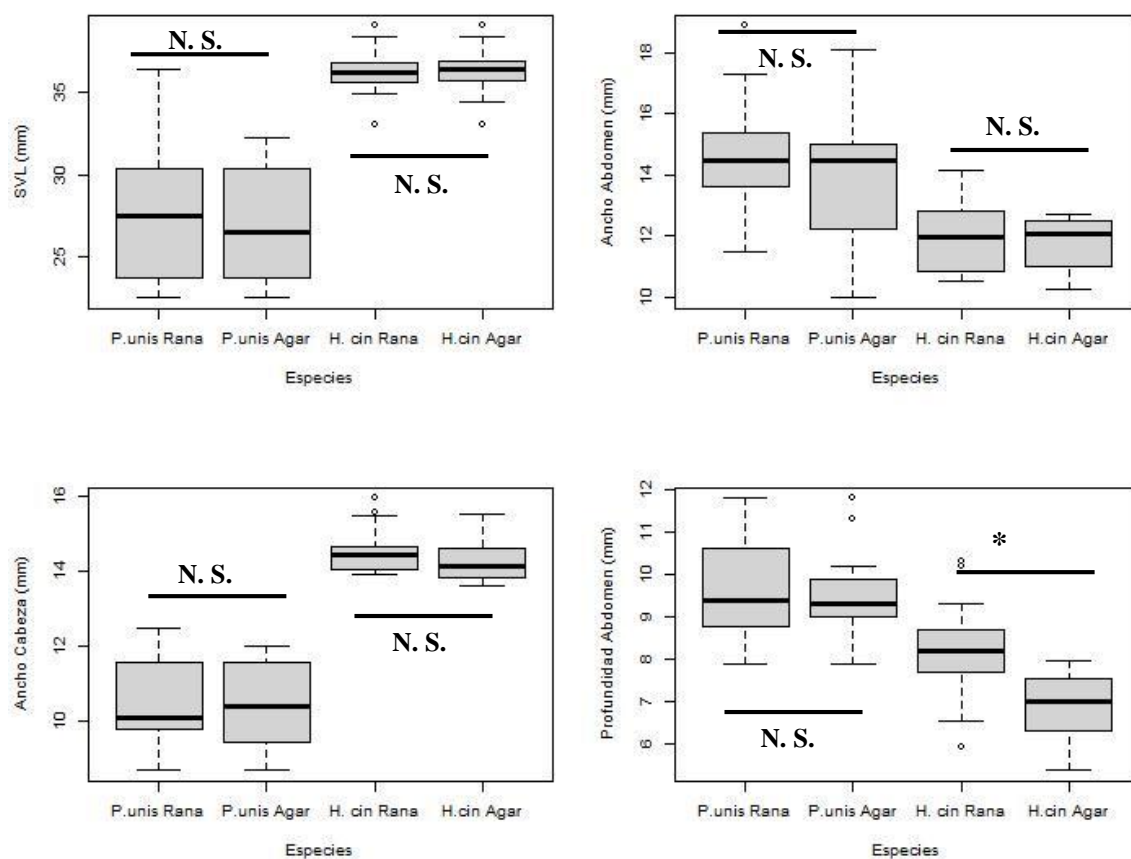
Los valores están expresados como (media ± desviación estándar); %PP(h) = porcentaje de pérdida de peso por hora; Tmáx(h) = Tiempo máximo para llegar al límite letal por desecación (40%).

Tabla 7. Resistencias totales y cutáneas a la pérdida de agua por evapotranspiración.

Ranas vs Modelos de Agar						Ranas					
Especie	Modelo	R _{TOT} (s cm ⁻¹)	Std	Z value	p-Value	Especie	Modelo	R _{CUT} (s cm ⁻¹)	Std	Z value	p-Value
<i>P. unistrigatus</i>	Rana	2.814±0.55	3.1586	4.7277	p < 0.01*						
<i>P. unistrigatus</i>	Agar	2.117±075				<i>P. unistrigatus</i>	Rana	0.712±0.75			
<i>H. cinerascens</i>	Rana	3.082±0.27	3.214	4.0238	p < 0.01*				3.2145	1.119	0.263
<i>H. cinerascens</i>	Agar	2.219±0.49				<i>H. cinerascens</i>	Rana	0.860±0.47			

Los valores están expresados como (media ± desviación estándar); R_{TOT} (s cm⁻¹) = resistencia total a la pérdida de agua por evapotranspiración; R_{CUT} (s cm⁻¹) = resistencia cutánea a la pérdida de agua por evapotranspiración en ranas vivas; * representan diferencias significativas p < 0.05.

11. ANEXOS



Anexo 1. Medidas de las ranas y modelos de agar de las especies *P. unistrigatus* e *H. cinerascens*, * indica diferencias estadísticas significativas. Los extremos de las barras indican los tratamientos comparados con el análisis estadístico y la significancia se muestra sobre la barra (N.S. = no significante, * = diferencias significativas $p < 0.05$) entre los experimentos realizados.

Anexo 2. Valores de Prueba de Wilcoxon que muestran la diferencia en medidas entre las ranas vivas y los modelos de agar.

Especie	Medida	Std	Z	p-Value	
<i>P. unistrigatus</i>	SVL	3,2095	0,083	0,9398	
	Ancho Cabeza	3,2073	0,2078	0,8353	
	A. Abdomen	3,2091	0,5608	0,5749	
	Prof. Abdomen	3,2045	0,3744	0,7081	
<i>H. cinerascens</i>	SVL	3,2113	-0,103	0,9174	
	Ancho Cabeza	3,2143	1,0578	0,2901	
	A. Abdomen	3,2138	0,8712	0,3836	
	Prof. Abdomen	3,2141	3,2356	0,0012	*

SVL = longitud rostro cloaca; A. Abdomen = Ancho Abdomen; Prof. Abdomen = profundidad de abdomen;

* representa diferencias estadísticas significativas.